

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**WEST**

Generate Collection

LS: Entry 21 of 32

File: EPAB

Jan 7, 1993

PUB-NO: DE004221103A1

DOCUMENT-IDENTIFIER: DE 4221103 A1

TITLE: Compsns. contg. herbal extracts - of myrrh, mulberry bark, cimicifuga and/or green tea, esp. for oral hygiene

PUEN-DATE: January 7, 1993

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
SUH, YU TAEK	KR
KIM, CHANG KU	KR
YANG, SAM JU	KR
SIM, YOUNG CHEOL	KR
PARK, SU NAM	KR
PARK, WCN JAE	KR
LEE, HYOUNG JAE	KR
JEON, KI BUNG	KR

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
PACIFIC CHEM CO LTD	KR

APPL-NC: DE04221103

APPL-DATE: June 26, 1992

PRIORITY-DATA: KR09110742A (June 27, 1991)

INT-CL (IPC): A61K 7/26

EUR-CL (EPC): A61K007/26; A61K035/78, A61K007/48

## ABSTRACT:

New compsns. comprises a mixt. of at least two materials from myrrh extract or oil, mulberry bark extract, Cimicifuga heracleifolia extract and green tea extract. The compsns. contain each of the four ingredients in amts. of 0.001-10 wt.%, while the extracts are obtained by extraction with water, alcohol or acetone. The compsns. are formulated as toothpastes, mouhwashes, breath fresheners, chewing gums or sweets. USE - The compsns. have antibacterial activity against cariogenic and plaque-forming bacteria and inhibit bacterial glycosyltransferase. They may be used for prophylaxis of caries and periodontal disease and for treating bad breath.



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 42 21 103 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
**A 61 K 7/26**

⑳ Aktenzeichen: P 42 21 103.4  
㉔ Anmeldetag: 26. 6. 92  
㉕ Offenlegungstag: 7. 1. 93

DE 42 21 103 A 1

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1  
27.06.91 KR 91-10742

⑦1 Anmelder:  
Pacific Chemical Co., Ltd., Seoul/Soul, KR

⑦4 Vertreter:  
Tauchner, P., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Heunemann,  
D., Dipl. Phys. Dr.rer.nat.; Rauh, P., Dipl.-Chem.  
Dr.rer.nat.; Hermann, G., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.,  
Schmidt, J., Dipl.-Ing., Jaenichen, H., Dipl.-Biol.  
Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte; Tremmel, H., Rechtsanwalt,  
8000 München

⑦2 Erfinder:  
Suh, Yu Taek; Kim, Chang Ku; Yang, Sam Ju; Sim,  
Young Cheol; Park, Su Nam; Park, Won Jae; Lee,  
Hyoung Jae, Seoul/Soul, KR; Jeon, Ki Bung,  
Anyang, KR

⑤4 Orale Zusammensetzungen zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen

⑤7 Es wird eine orale Zusammensetzung zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen beschrieben. Die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfaßt als Wirkstoff ein Gemisch von mindestens zwei Pflanzenextrakten ausgewählt aus Myrrhe (oder Myrrheöl), Maulbeerbaumsrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee. Die orale Zusammensetzung kann durch Auslaugen der Pflanzen mit einem polaren Lösungsmittel wie Wasser, Methanol, Ethanol oder Aceton erfolgen. Durch anschließendes Filtern, Konzentrieren und Trocknen kann das Gemisch der Pflanzenextrakte erhalten werden, das dann mittels üblichen Verfahren in eine geeignete orale Zusammensetzung überführt werden kann.

DE 42 21 103 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine orale Zusammensetzung zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen. Genauer betrifft die Erfindung eine orale Zusammensetzung, die antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries hervorrufende Bakterien, wie *Streptococcus mutans* (z. B. ATCC 27607, ATCC 27351, ATCC 25175, NRRL 10449), *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, und gegen parodontale Erkrankungen hervorrufende Bakterien, wie *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Bacteroides intermedius* aufweist, und die die Wirkung des extramycelären Enzyms der Zahnkaries hervorrufenden Bakterien, die Glycosyltransferase (GTase), unterdrückt. Hierdurch werden Zahnkaries und parodontale Erkrankungen die durch Plaquebildung hervorgerufen werden, verhindert.

Zucker, der in verschiedenen Nahrungsmitteln vorhanden ist, wird unter dem Einfluß von verschiedenen im Mund vorhandenen Bakterienarten in haftfähige Kohlenhydrate überführt. Dies führt dazu, daß die Bakterien leicht an der Oberfläche der Zähne anhaften können und damit die sogenannte Plaque, eine Gruppe von Bakterien, bilden.

Diese Bakteriengruppen zersetzen in der Folge die Kohlenhydrate zu Säuren, die die Zahnschmelzoberfläche der Zähne angreifen und zum Zerfall der Zähne führen (Zahnkaries). Die einmal gebildete Plaque entwickelt sich schnell weiter zu Zahnstein, der der Grund für eine Vielzahl von parodontalen Erkrankungen wie Zahnfleischentzündungen, Gingivitis und Pyorrhea alveolar ist.

Zur Verhinderung der oralen Krankheiten wurde eine Vielzahl von Antibiotika und Bakteriziden vorgeschlagen. Diese bekannten Verfahren zeigen jedoch erhebliche Nebenwirkungen, die im Stand der Technik beschrieben sind (J. Dent. Res., 25 (1946), 441; J. Dent. Res., 31 (1966) 421; und J. Oral ther. Pharmacol., 3 (1966), 157; J. Am. Dent. Ass., 87 (1973), 1006).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine orale Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen, bei deren Verwendung sich die im Stand der Technik beschriebenen Schwierigkeiten nicht ergeben.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine orale Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen, die verbesserte antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries und parodontale Erkrankungen hervorrufende Bakterien besitzt und die im Vergleich zu bekannten Formulierungen eine stärkere Hemmwirkung gegen GTase besitzt.

Diese Aufgaben werden durch die in den Patentansprüchen beschriebenen oralen Zusammensetzungen gelöst.

Die Erfindung beruht auf dem überraschenden Befund, daß ein Extrakt eines Gemisches von bestimmten Pflanzen, wie Myrrhe, Maulbeerbaumrinde, *Cimicifuga heracleifolia* und grünem Tee ausgezeichnete und überlegene antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries und parodontale Erkrankungen hervorrufende Bakterien im Vergleich zu den üblichen Pflanzenextrakten zeigen, z. B. Süßholz und Maulbeerbaumrinde, die in der JP-PS 54-1 34 729 offenbart sind, *Hypericum erectum*, das in der JP-PS 38-2 53 019 offenbart ist und Saibei und Rosmarin, die in der JP-PS 33-39 614 offenbart sind. Es wurde außerdem gefunden, daß das erfindungsgemäße Gemisch von Extrakten eine bessere GTase Hemmwirkung gegen das extramycelare Enzym von *S. mutans*, das eine wichtige Rolle in der Plaquebildung spielt, besitzt, als die üblicherweise verwendeten Pflanzenextrakte, z. B. grüner Tee, Oolong und schwarzer Tee, die in der JP-PS 39-1 90 624 offenbart sind, Pfefferminz und Rosmarin, die in der JP-PS 87-48 616 offenbart sind und Senega und Haselnuß, die in der JP-OS 37-58 331 offenbart sind.

Der hier benützte Ausdruck Myrrhe bedeutet ein gummiartiges Harz, das durch Anritzen der Rinde von *Commiphora molmol* Engl. und von anderen Pflanzen der gleichen Art (*Burseraceae*) erhalten wird, die eine analgetische und antiseptische Wirksamkeit zeigen und die nicht nur in der Behandlung von Schwammchen und Gingivitis sondern auch in der Zubereitung von Mundreinigern verwendet werden.

Maulbeerbaumrinde ist die Wurzelrinde von *Morus alba* L. und Pflanzen der gleichen Art (*Moraceae*), die z. B. antihypertensiv und entzündungshemmend wirken.

*Cimicifuga heracleifolia* ist der Wurzelstock von *Cimicifuga heracleifolia* komarov und anderen Pflanzen der gleichen Art (*Ranunculaceae*), die analgetische und antipyretische Wirksamkeit besitzen und die daher nach den Beschreibungen in verschiedenen chinesischen Medizinbüchern zur Behandlung von Zahnschmerzen und Entzündungen im Mundbereich weite Anwendung finden.

Grüner Tee wird aus den Blättern von *Camellia sinensis* und Pflanzen der gleichen Art hergestellt und war schon in alter Zeit ein beliebtes Erfrischungsgetränk.

Bei einer Untersuchung von Professor Masao an der Zahnmedizinischen Fakultät des Tokyoer Medical College an 300 Kindern einer Grundschule wurde festgestellt, daß Kinder, die nach dem Mittagessen Tee zu sich nehmen, weniger häufig Zahnkaries aufweisen als Kinder, die keinen Tee zu sich nehmen. Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, daß ein enger Zusammenhang zwischen Tee und Zahnkaries besteht. Es wird vermutet, daß Tee antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries hervorrufende Bakterien besitzt (Fragrance J., (1990) 48). Zusätzlich wurde berichtet, daß Tee gegen schlechten Atem wirksam ist (Fragrance J., (1990) 37).

Es wurde nun überraschend gefunden, daß eine Mischung von Extrakten der oben beschriebenen Pflanzen in Form einer oralen Zusammensetzung antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries hervorrufende Bakterien und gegen parodontale Erkrankungen hervorrufende Bakterien besitzt, ebenso wie eine GTase Hemmwirkung.

Die Erfindung stellt eine orale Zusammensetzung zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen zur Verfügung, die mindestens zwei Pflanzenextrakte, ausgewählt aus Myrrhe (oder Myrrheöl), Maulbeerbaumrinde, *Cimicifuga heracleifolia* und grünem Tee, enthält. Eine Zusammensetzung, die mehr als zwei der Pflanzenextrakte enthält, ist bevorzugt. Die Zusammensetzung kann in verschiedenen Arten von oralen Formulierungen, wie als Zahnpasta, Mundwascmittel, Süßigkeit oder Kaugummi vorliegen. Insbesondere die Zusammensetzungen, die alle Pflanzenextrakte von Myrrhe, Maulbeerbaumrinde, *Cimicifuga heracleifolia* und grünem Tee aufweisen, zeigen eine ausgezeichnete Wirksamkeit.

Als Lösemittel für die Extraktion von rohen Arzneimitteln aus den Pflanzen von rohen Arzneimittel wurde ein polares Lösemittel wie Wasser, Methanol, Ethanol und Aceton in einer 2- bis 10fachen Volumenmenge für die rohen Pflanzen verwendet. Nach dem Auslaugen mit einem dieser Lösemittel wird das Gemisch gefiltert und das Filtrat bis zur Trockne eingedampft. Anschließend wird das Konzentrat in einer geeigneten Lösung gelöst und die so hergestellte Suspension kann weiter verwendet werden. Das Gemisch von so erhaltenen Pflanzenextrak-  
ten kann im menschlichen Mund zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen angewen-  
det werden, indem man es auf verschiedene Weise oral formuliert.

Das Gemisch der Pflanzenextrakte wird in einer Menge von 0,001 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise von 0,01 bis 3 Gew.-% in eine orale Zusammensetzung eingebracht. Die erfindungsgemäßen oralen Zusammensetzungen können als folgende Formulierungen vorliegen: Zahnpasta, Mundwaschmittel, Munderfrischungsmittel, Mittel  
gegen Mundgeruch, Süßigkeit und Kaugummi.

Erfindungsgemäß können die verschiedenen oralen Zusammensetzungen unter Verwendung der für die jeweiligen Eigenschaften und Verwendung geeigneten Zusatzstoffe hergestellt werden. Zum Beispiel kann eine Zahnpasta durch Formulierung von Schleifmitteln, wie Calciumphosphat (zweibasisch), Calciumcarbonat, Calci-  
umpyrophosphat, Calciummetaphosphat, Silikamaterialien (Siliciumoxid-Materialien), Aluminiumsilikaten, Alu-  
miniumhydroxid (10 bis 60%), Verdickungsmitteln wie Carboxymethylcellulose, Hydroxymethylcellulose, Algi-  
nat, Karaginan, Gummi arabicum, Polyvinylalkohol (0,4 bis 5%), einem Benetzungsmittel, wie Polyethylenglycol,  
Sorbit, Glycerin, Polyvinylalkohol, einem Schäumungsmittel, wie Natriumlaurylsulfat, Natriumlaurylsarcosinat,  
Monoglyceridsulfat, Saccharosefettsäureester, polyoxyethylen-hydrogeniertes Ricinusöl, Polyoxyethylen-Poly-  
oxypropylen-Copolymer, Polyoxyethylensorbitanfettsäureester und gegebenenfalls einem Geruchsstoff, einem  
Süßstoff, wie Saccharin und Stebiosid und Konservierungsmitteln mit Wasser nach allgemein üblichen Verfah-  
ren hergestellt werden.

Die erfindungsgemäß hergestellte Zahnpasta kann ebenfalls weitere übliche Wirkstoffe wie Natriumfluorid,  
Natriummonofluorophosphat, Kochsalz, Allantoin, Pyrophosphat, Aminocarosäure (amino caroic acid), Vitamine,  
Kupfer-natriumchlorophyll, Tranexamsäure, Zinkchlorid, Triclosan, Cetylpyridiumchlorid und Vinylmethylet-  
her/Maleinsäure-Copolymer enthalten. Andere Formulierungen, z. B. als Mundwaschmittel, Süßigkeiten und  
Kaugummi können ebenfalls durch die Formulierung von verschiedenen Inhaltsstoffen nach bekannten Verfah-  
ren hergestellt werden.

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

#### Herstellungsbeispiel 1

Zu jeweils 50 g der getrockneten und geriebenen rohen Pflanzen (Maulbeerbaumrinde, *Cimicifuga heracleifolia*  
und Myrrhe) werden 500 ml Methanol zugegeben. Dann läßt man das Gemisch 10 Tage bei Raumtemperatur  
auslaugen. Nach Filtration wird das Filtrat unter vermindertem Druck bis zum Konzentrat eingedampft. Die  
Ausbeuten des jeweiligen Pflanzenextrakts sind in Tabelle I aufgeführt.

Tabelle I

#### Ausbeute an Pflanzenextrakt

Lösungsmittel für die Extraktion	Pflanzenextrakt (g/100 g der rohen Pflanze)		
	Maulbeer- baumrinde	<i>Cimicifuga</i> <i>heracleifolia</i>	Myrrhe
Wasser	14,2	12,6	28,0
50% Ethanol	11,2	19,6	18,5
70% Ethanol	11,2	17,3	10,5
80% Ethanol	10,1	10,9	5,4
95% Ethanol	5,9	8,5	2,7
95% Methanol	4,3	10,2	1,9

#### Herstellungsbeispiel 2

Zu jeweils 50 g der getrockneten und geriebenen rohen Pflanzen (Maulbeerbaumrinde, *Cimicifuga heracleifolia*  
und Myrrhe) werden 500 ml destilliertes Wasser gegeben und das entstehende Gemisch wird 3 Stunden unter  
Rückfluß extrahiert. Nach Filtration wird das Filtrat unter vermindertem Druck bis zum Konzentrat einge-  
dampft. Die Ergebnisse sind in Tabelle II aufgeführt.

Tabelle II

## Ausbeute an Pflanzenextrakt

Lösungsmittel für die Extraktion	Pflanzenextrakt (g/100 g der rohen Pflanze)		Myrrhe
	Maulbeer- baumrinde	Cimicifuga heracleifolia	
Wasser	13.4	10.4	27.5
50% Ethanol	10.9	18.8	17.8
70% Ethanol	10.8	17.1	10.0
80% Ethanol	9.5	9.9	5.1
95% Ethanol	5.4	7.8	2.2
95% Methanol	4.1	9.5	1.7

## Herstellungsbeispiel 3

Zu 50 g der getrockneten und geriebenen rohen Pflanze (grüner Tee) werden 500 ml 70%iges Ethanol zugefügt. Dann läßt man das Gemisch 10 Tage bei Raumtemperatur auslaugen. Nach Filtration wird das Filtrat stark eingeeengt und man erhält 20.2 g des Konzentrats. Die anderen getrockneten rohen Pflanzen (Myrrhe, Maulbeerbaumrinde und Cimicifuga heracleifolia) werden nach dem gleichen Verfahren wie vorstehend beschrieben, einer Extraktion unterworfen und man erhält 6.1 g, 5.2 und 4.8 g des jeweiligen Konzentrats. Anschließend wird zu jedem Konzentrat 70%iges Ethanol zugefügt und man erhält eine extrahierte Lösung in einer Konzentration von 50 Gew.-%.

## Beispiel 1

## Antibakterielle Untersuchung einer Zahnpasta

## 1. Herstellung der Zusammensetzung

Mit den in den Herstellungsbeispielen 1 und 2 erhaltenen Extrakten von Maulbeerbaumrinde und Myrrhe wird entweder einzeln oder zusammen eine Zahnpasta nach der folgenden Zusammensetzung auf übliche Weise hergestellt:

Calciumphosphat, zweibasisch	40,0%
Glycerin	15,0%
Sorbit	15,0%
Carboxymethylcellulose	1,0%
Natriumlaurylsulfat	0 oder 1,5%
Geruchsstoff	1,0%
Myrrheextrakt	0—2%
Maulbeerbaumrindenextrakt	0—2%
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
Summe	100,0%

## 2) Versuchsmethode

Streptococcus mutans (NRRL 10449) werden 24 Stunden lang in einem Hirn-Herzinfusions-Medium kultiviert, 5mal mit 2% Zucker ergänztem Hirn-Herzinfusions-Medium verdünnt und dann 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Hierdurch entstehen aktivierte Mikroorganismen, die in dem folgenden Versuch verwendet werden.

Die wie vorstehend in Abschnitt 1 formulierte Zahnpasta wird in destilliertem Wasser auf eine Konzentration von 30% suspendiert und die Suspension 20 Minuten lang bei 12 000 UpM zentrifugiert. Zu 1 ml des Überstandes wird 0.1 ml der wie vorstehend erhaltenen mikroorganismenhaltigen Lösung (ca.  $10^8$  Zellen/ml) hinzugefügt. Das erhaltene Gemisch wird sorgfältig gemischt und nach jeweils 1, 2, 3, 5 und 10 Minuten werden Anteile von 0.1 ml entnommen und in 9.9 ml sterilisiertem Wasser suspendiert (100fache Verdünnung). Anschließend werden wieder 0.1 ml Anteile von jeder Suspension entnommen und erneut in 9.9 ml sterilisiertem Wasser resuspendiert (10 000fache Verdünnung). 1 ml dieser verdünnten Suspension wird in eine Petrischale gegeben und Hirn-Herzinfusions-Medium wird hinzugefügt. Nach sorgfältigem Mischen und Absetzenlassen wird das Medium 2 Tage bei 37°C inkubiert. In Abhängigkeit von der Zeit wird die Konzentration von Pflanzenextrakt und die Zahl der lebenden Mikroorganismen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle III aufgeführt.

Tabelle III

Antibakterielle Wirksamkeit von Pflanzenextrakten in einer Zahnpastenzusammensetzung (bei 30%iger Konzentration der Zahnpasta)

In die Zahnpastazusammensetzung eingebrachte Menge in %			Zahl der lebenden Mikroorganismen in Abhängigkeit der Zeit ( $\times 10^3$ Zellen)		
Natriumlauryl- sulfat	Maulbeer- baumrinde	Myrrhe	1 min	2 min	3 min
1.5	0.0	0.0	2160	80	16
	0.1	0.0	6.1	16.9	8.1
	0.3	0.0	23.2	8.6	7.1
	0.0	0.1	13.8	12.9	6.5
	0.0	0.3	8.5	8.5	5.3
	0.1	0.1	3.0	22.0	6.5
	0.1	0.3	7.4	5.1	4.7
	0.3	0.1	13.3	6.6	7.6

Wie aus der vorstehenden Tabelle III hervorgeht, nimmt bei Verwendung der Zahnpasta, die Maulbeerbaumrindenextrakt oder Myrrhenextrakt in einer bestimmten Konzentration enthält, die Zahl der Mikroorganismen signifikant ab im Vergleich zu einer Zahnpasta, die diese Pflanzenextrakte nicht enthält. Berücksichtigt man weiterhin die beim Zähneputzen üblichen Bedingungen, kann aus den Ergebnissen der antibakteriellen Wirksamkeit nach 3 Minuten gefolgert werden, daß die erfindungsgemäßen Pflanzenextrakte eine ausgezeichnete Wirksamkeit bei der Verhinderung von Zahnkaries zeigen.

## Beispiel 2

## 1) Bestimmung der antibakteriellen Wirksamkeit einer Zahnpasta

Mit den in den Herstellungsbeispielen erhaltenen Pflanzenextrakten wird eine Zahnpasta nach der folgenden Rezeptur nach allgemein üblichen Verfahren formuliert.

Inhaltsstoff	Gew.-%	Gew.-%	Gew.-%	Gew.-%
Aluminiumhydroxid	47	47	47	47
Glycerin	10	10	10	10
Sorbit	20	20	20	20
Carboxymethylcellulose	0.7	0.7	0.7	0.7
Natriumlaurylsulfat	0 oder 1.5	0 oder 1.5	0 oder 1.5	0 oder 1.5
Methylbenzoesäure	0.15	0.15	0.15	0.15
Geruchsstoff	1	1	1	1
Myrrhenextrakt	0.05	0.2	0.5	1
Maulbeerbaumrindenextrakt	0.03	0.12	0.3	0.6
Cimicifuga heraclefoliaextrakt	0.02	0.08	0.2	0.4
grüner Teextrakt	0.01	0.04	0.1	0.2
gereinigtes Wasser	Ausgleich	Ausgleich	Ausgleich	Ausgleich
Summe	100.0	100.0	100.0	100.0

## 2) Experimentelles Verfahren

Jeweils 10 g der vorstehend hergestellten Zahnpasten werden zu 10 ml eines Hirn-Herzinfusions (BHI) Mediums, das 2% Zucker enthält, hinzugefügt und sorgfältig dispergiert. Anschließend werden die Dispersionen mit dem BHI-Medium auf eine Zahnpastakonzentration von 0,06 bis 0,18% verdünnt. Diese Dispersionen werden mit Zahnkaries erzeugenden Bakterien (*S. mutans*: ATCC 25175) und parodontale Erkrankungen erzeugenden Bakterien (*Actinomyces viscosus*: ATCC 15987) geimpft und 24 Stunden lang in einem Inkubator bei einer Temperatur von 37°C inkubiert.

Nach der Inkubation wird die antibakterielle Wirksamkeit gegen die vorstehend beschriebenen zwei Arten von Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Konzentration der Zahnpasta und der Pflanzenextrakte bestimmt. Die Ergebnisse sind in den nachstehenden Tabellen IV und V aufgeführt.

Tabelle IV

Antibakterielle Wirksamkeit von Pflanzenextrakten in einer Zahnpasta gegen Zahnkaries erzeugende Bakterien  
(*S. mutans*: ATCC 25 175)

Zur Zahnpastazusammensetzung zugefügte Menge an Pflanzenextrakt in %					Konzentration der Zahnpasta in der Prüflösung in %						
	Natrium-lauryl-sulfat	Myrrhe	Maulbeer-baum-rinde	cimicifuga heraclei-folia	grüner Tee	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.15
1.5		0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
		0.05	0.03	0.02	0.01	+	+	—	—	—	—
15		9.2	0.12	0.08	0.04	—	—	—	—	—	—
		0.5	0.3	0.2	0.1	—	—	—	—	—	—
		1.0	0.6	0.4	0.2	—	—	—	—	—	—
0		0	0	0	0	—	—	—	+	+	+
		0.05	0.03	0.02	0.01	—	—	—	—	—	—
20		0.2	0.12	0.08	0.04	—	—	—	—	—	—
		0.5	0.3	0.2	0.1	—	—	—	—	—	—
		1.0	0.6	0.4	0.2	—	—	—	—	—	—
+ Eine Vermehrung der Mikroorganismen wurde beobachtet.											
— Keine Vermehrung der Mikroorganismen wurde beobachtet.											

Tabelle V

Antibakterielle Wirksamkeit von Pflanzenextrakten in einer Zahnpasta gegen paradontale Erkrankungen hervorrufoende Bakterien (*Actinomyces viscosus*: ATCC 15 987)

Zur Zahnpastazusammensetzung zugefügte Menge an Pflanzenextrakt in %					Konzentration der Zahnpasta in der Prüflösung in %						
35	Natrium-lauryl-sulfat	Myrrhe	Maulbeer-baum-rinde	cimicifuga heraclei-folia	grüner Tee	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.15
	1.5	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
40	0.05	0.03	0.02	0.01	0.01	+	—	+	+	—	—
	0.2	0.12	0.08	0.04	0.04	+	—	—	—	—	—
	0.5	0.3	0.2	0.1	0.1	—	—	—	—	—	—
	1.0	0.6	0.4	0.2	0.2	—	—	—	—	—	—
45	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
	0.05	0.03	0.02	0.01	0.01	+	+	+	+	+	—
	0.2	0.12	0.08	0.04	0.04	+	+	—	—	—	—
	0.5	0.3	0.2	0.1	0.1	—	—	—	—	—	—
	1.0	0.6	0.4	0.2	0.2	—	—	—	—	—	—
50	Anm.:										
	+ Eine Vermehrung der Mikroorganismen wurde beobachtet.										
	— Keine Vermehrung der Mikroorganismen wurde beobachtet.										

Natriumlaurylsulfat ist das üblicherweise bei der Herstellung von Zahnpasta verwendete Schäumungsmittel und wird in einer Menge von 1 bis 2%, bezogen auf die Gesamtzusammensetzung zugefügt. Weiterhin ist bekannt, daß die Verbindung an sich ein gewisses Maß an antibakterieller Wirksamkeit besitzt. Den vorstehenden Tabellen IV und V kann jedoch entnommen werden, daß eine Zahnpasta, die zusätzlich zu Natriumlaurylsulfat noch Pflanzenextrakte von Myrrhe, Maulbeerbaumrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee umfaßt, eine stärkere antibakterielle Wirksamkeit besitzt als eine Zahnpasta, die nur Natriumlaurylsulfat umfaßt.

## Beispiel 3

Bestimmung der G-Fase-Hemmwirkung in einer Zahnpasta

## 1) Herstellung einer Zusammensetzung

Eine Zahnpastazusammensetzung wird auf gleiche Weise wie in Beispiel 2 hergestellt und in diesem Versuch



verwendet.

## 2) Versuchsverfahren

### a) Abtrennung und Reinigung von GTase

3 Liter BHI Medium werden mit *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) geimpft und 18 Stunden in einem Inkubator bei 38°C inkubiert. Nach der Inkubation wird das Mycelium durch Zentrifugation entfernt (3000 UpM · 20 min.).

Der Überstand wird mit Ammoniumsulfat bis zu einer Konzentration von 60 bis 70% gesättigt und 18 Stunden bei 4°C stehengelassen. Die entstehenden Niederschläge werden 20 Minuten bei 3000 UpM zentrifugiert, in 200 ml einer 0,05 M Kaliumphosphatpufferlösung mit einem pH-Wert von 6,5 gelöst und 24 Stunden lang gegen die gleiche Pufferlösung dialysiert. Nach Beendigung der Dialyse wird die Lösung zur Entfernung der nicht-löslichen Rückstände erneut zentrifugiert. Die so erhaltene Coenzymlösung wird auf eine mit Hydroxyapatit gepackte Säule gegeben, und schrittweise mit der gleichen Pufferlösung, jedoch mit verschiedenen Ionenstärken eluiert. Man erhält die gereinigte GTase.

### b) Bestimmung der GTase Hemmwirkung

Jeweils 10 g der so hergestellten Zahnpasten werden mit destilliertem Wasser auf eine Konzentration von 20% verdünnt und anschließend 20 Minuten lang bei 3000 UpM zentrifugiert, worauf man Überstände erhält. Diese Überstände werden erneut mit destilliertem Wasser auf eine Konzentration von 0,67 und 1,5% verdünnt und anschließend zu 4 ml einer 0,05 M Kaliumphosphatpufferlösung mit einem pH-Wert von 6,5 gegeben, die 50 bis 100 µg des vorstehend erhaltenen GTF, 70 µg Zucker und 0,02% NaN<sub>3</sub> enthält.

Die Umsetzung wird 18 Stunden in einem Pyrostaten bei 37°C durchgeführt. Nach erfolgter Umsetzung wird die Menge des erhaltenen Glucans spektroskopisch durch Absorption bei 660 nm bestimmt. Die Abnahme der Absorption bei dieser Wellenlänge ist proportional zur Fähigkeit die Glucanerzeugung zu unterdrücken, d. h. zur Hemmwirkung gegenüber GTase.

Die GTase-Hemmwirkung wird durch folgende Gleichung berechnet, wobei die Absorption der Vergleichslösung für die Absorption der Umsetzungslösung die keine Pflanzenextrakte enthält, steht.

$$\text{GTase-Hemmwirkung (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Absorption der Testlösung}}{\text{Absorption der Vergleichslösung}} \right) \times 100$$

Die Ergebnisse sind in Tabelle VI aufgeführt.

Tabelle VI

GTase-Hemmwirkung von Pflanzenextrakten in einer Zahnpasta

Prozentualer Gehalt an Pflanzenextrakt in der Zahnpastazusammensetzung (%)					Hemmwirkung (%) Konzentration der Zahnpasta (%)	
Natrium-laurylsulfat	Myrrhe	Maulbeerbaumrinde	Cimicifuga heracleifolia	grüner Tee	0,67	1,50
1,5	0	0	0	0	2	4
	0,05	0,03	0,02	0,01	17	22
	0,2	0,12	0,08	0,04	26	31
	0,5	0,3	0,2	0,1	37	44
	1,0	0,6	0,4	0,2	49	56
0	0	0	0	0	0	2
	0,05	0,03	0,02	0,01	18	22
	0,2	0,12	0,08	0,04	26	30
	0,5	0,3	0,2	0,1	36	43
	1,0	0,6	0,4	0,2	47	53

Obwohl das normalerweise in Zahnpastazusammensetzungen enthaltene Natriumlaurylsulfat eine gewisse GTase hemmende Wirkung zeigt ist diese nicht ausreichend, um Zahnkaries zu verhindern und es ist notwendig, noch zusätzliche GTase hemmende Verbindungen zuzufügen.

Wie aus der vorstehenden Tabelle VI hervorgeht, zeigen die Zahnpasten, die zusätzlich zu Natriumlaurylsulfat Pflanzenextrakte wie Myrrhe, Maulbeerbaumrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee umfassen, eine signifikant verbesserte GTase Hemmwirkung im Vergleich zu den Zahnpasten, die ausschließlich Natriumlaurylsulfat umfassen. Daher steht zu erwarten, daß die Verwendung der Pflanzenextrakte in den Zahnpasten günstig zur Verhinderung von Zahnkaries ist.

Die in den Tabellen I bis VI aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß Zahnpasten, die ein Gemisch von Pflanzenextrakten, ausgewählt aus Myrrhe, Maulbeerbaumrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee enthalten, eine

# DE 42 21 103 A1

bessere antibakterielle Wirksamkeit gegen Zahnkaries und parodontaler Erkrankungen erzeugende Bakterien sowie eine bessere GTase-Hemmwirkung aufweisen als Zahnpasten, die das Gemisch der Pflanzenextrakte nicht enthalten.

Das erfindungsgemäße Gemisch von Pflanzenextrakten besitzt daher eine ausgezeichnete Wirkung bei der Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen.

Mögliche Formulierungen werden an den folgenden Beispielen gezeigt.

## Formulierung 1: Zahnpasta

10	Calciumphosphat, zweibasisch	40,0%
	Glycerin	15,0%
	Sorbit	15,0%
	Carboxymethylcellulose	1,0%
	Natriumlaurylsulfat	1,5%
15	Geruchsstoff	1,0%
	Maulbeerbaumrindenextrakt	0,1%
	Myrrhenextrakt	0,1%
	Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
20	Summe	100,0%

## Formulierung 2: Zahnpasta

25	Aluminiumhydroxid	47%
	Natriummonofluorophosphat	0,75%
	Glycerin	10%
	Sorbit	20%
	Carboxymethylcellulose	0,7%
30	Natriumlaurylsulfat	1,5%
	Methylbenzoesäure	0,15%
	Geruchsstoff	1,0%
	Myrrhenextrakt	0,2%
35	Maulbeerbaumrindenextrakt	0,05%
	Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,03%
	grüner Teextrakt	0,02%
	Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
40	Summe	100,0%

## Formulierung 3: Zahnpasta

45	Silika	20%
	Natriummonofluorophosphat	0,38%
	Natriumfluorid	0,11%
	Sorbit	20,0%
	Glycerin	5,0%
50	Polyethylenglycol 1500	2%
	Carboxymethylcellulose	0,07%
	Natriumlauroylsarcosin	2%
	Methylbenzoesäure	0,15%
55	Geruchsstoff	1%
	Myrrheol	0,3%
	Maulbeerbaumrindenextrakt	0,2%
	Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,1%
	grüner Teextrakt	0,05%
60	Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
	Summe	100,0%

# DE 42 21 103 A1

## Formulierung 4: Zahnpasta

Kaliumphosphat, zweibasisch	40%	
Natriummonofluorophosphat	0,76%	
Sorbit	15%	5
Glycerin	15%	
Polyethylenglycol 1500	0,9%	
Carboxymethylcellulose	0,7%	
Natriumlaurylsulfat	1,5%	10
Methylbenzoesäure	0,15%	
Geruchsstoff	1%	
Myrrhenextrakt	0,3%	
Maulbeerbaumrindenextrakt	0,3%	
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,3%	15
grüner Teeextrakt	0,1%	
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>	
Summe	100,0%	20

## Formulierung 5: Geklärte Zahnpasta

Wasserfreie Kieselsäure	25,0%	
Sorbit	35,0%	25
Glycerin	20,0%	
Polyethylenglycol 400	5,0%	
Carboxymethylcellulose	0,7%	
Natriumlaurylsarcosin	1,5%	30
Geruchsstoff	1,0%	
Etherfraktion des	0,1%	
Maulbeerbaumrindenextrakts		
Etherfraktion des Cimicifuga	0,1%	
heracleifoliaextrakts		
gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>	35
Summe	100,0%	

## Formulierung 6: Geklärte Zahnpasta

Silica	15%	
Natriummonofluorophosphat	0,76%	
Sorbit	40%	
Glycerin	20%	45
Polyethylenglycol 1500	0,5%	
Carboxymethylcellulose	0,8%	
Natriumlaurylsulfat	1,5%	
Methylbenzoesäure	0,15%	
Geruchsstoff	1,0%	50
Myrrhenextrakt	0,2%	
Maulbeerbaumrindenextrakt	0,3%	
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,2%	
Grüner Teeextrakt	0,1%	55
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>	
Summe	100,0%	

# DE 42 21 103 A1

## Formulierung 7: Mundspülmittel

Ethanol	25%
Geruchsstoff	1.0%
Saccharin	0.005%
Lauryldiethanolamin	0.3%
Myrrhenextrakt	0.1%
Maulbeerbaumrindenextrakt	0.08%
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0.05%
Grüner Teextrakt	0.02%
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
Summe	100.0%

## Formulierung 8: Munderfrischungsmittel (zum Sprühen)

Ethanol	40.0%
Sorbit	10.0%
Geruchsstoff	1.0%
Polyethylen (60) hydriertes Ricinusöl	0.5%
Saccharin	0.1%
Maulbeerbaumrindenextrakt	0.1%
Myrrhenextrakt	0.1%
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
Summe	100.0%

## Formulierung 9: Munderfrischungsmittel (zum Sprühen)

Ethanol	40%
Sorbit	15%
Geruchsstoff	1%
Polyethylen (60) hydriertes Ricinusöl	0.7%
Saccharin	0.05%
Myrrhenextrakt	0.1%
Maulbeerbaumrindenextrakt	0.05%
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0.05%
Grüner Teextrakt	0.02%
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
Summe	100.0%

## Formulierung 10: Aromatisches Mundmittel

Glucose	7%
Gummi arabicum	4.5%
Gelatine	1.5%
Geruchsstoff	0.2%
Myrrhenextrakt	0.2%
Maulbeerbaumrindenextrakt	0.1%
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0.05%
Grüner Teextrakt	0.02%
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>
Summe	100.0%

# DE 42 21 103 A1

## Formulierung 11: Aromatisches Mundgummi

Gummigrundstoff	37%	
Lactose	50%	
Stärkesirup	9,6%	5
Calciumcarbonat	2,0%	
Geruchsstoff	0,2%	
Myrrhenextrakt	0,1%	
Maulbeerbaumrindenextrakt	0,1%	10
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,05%	
Grüner Teextrakt	0,02%	
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>	
Summe	100,0%	15

## Formulierung 12: Süßigkeit

Zucker	55,6%	
Stärkesirup	41%	20
Karamel	3,0%	
Geruchsstoff	0,1%	
Myrrhenextrakt	0,1%	
Maulbeerbaumrindenextrakt	0,05%	25
Cimicifuga heracleifoliaextrakt	0,05%	
Grüner Teextrakt	0,1%	
Gereinigtes Wasser	<u>Ausgleich</u>	
Summe	100,0%	30

## Patentansprüche

1. Zusammensetzung aus einem Gemisch von mindestens zwei Pflanzenextrakten aus der Gruppe Myrrhe (oder Myrrheöl), Maulbeerbaumrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee. 35
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Extrakte von Myrrhe (oder Myrrheöl), Maulbeerbaumrinde, Cimicifuga heracleifolia und grünem Tee sämtlich in dem Gemisch enthält.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, in Form einer Zahnpasta, eines Mundspülmittels, eines Erfrischungsmittels für den Mund, eines aromatischen Mittels für den Mund, eines Kaugummis oder einer Süßigkeit. 40
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Pflanzenextrakte in dem Gemisch in einer Menge von 0,001 bis 10 Gew.-% enthalten sind.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie Cimicifuga heracleifoliaextrakt enthält.
6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie grünen Teextrakt enthält. 45
7. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 als orale Zusammensetzung zur Verhinderung von Zahnkaries und parodontalen Erkrankungen.
8. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 5 als GTase-Hemmittel und als Linderungsmittel bei oralen Entzündungen. 50
9. Verwendung der Zusammensetzung nach Anspruch 6 als Mittel gegen schlechten Atem.
10. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung der jeweiligen Pflanzenextrakte durch Extraktion der entsprechenden rohen Pflanzen mittels eines Lösungsmittels aus der Gruppe von Wasser, Alkohol und Aceton erfolgt. 55

- Leerseite -